第 41 卷 第 4 期
1998 年 11 月

昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

Vol. 41, No. 4
Nov., 1998

转 Bt 基因棉花对棉铃虫不同龄期幼虫的杀虫活性和抑制生长作用*

赵建周 卢美光 范贤林 谢飞舟**
（中国农业科学院植物保护研究所，北京 100094）

摘要 以我国培育的转 Bt 基因棉花（简称 Bt 棉）为材料，系统测定了 Bt 棉叶片对棉铃虫 *Helicoverpa armigera*（Hübner）不同龄期幼虫的杀虫活性和抑制生长的作用。结果表明，Bt 棉的杀虫活性随着龄期的增大而趋于降低，其中处理3 d 只对1龄幼虫有较高效果；从1～4龄开始连续取食 Bt 棉后均不能化蛹，5龄幼虫则能正常化蛹。3龄幼虫取食 Bt 棉叶3 d 后的体重与初始体重之比为0.94，而取食常规棉叶的相应比值为5.48，对幼虫生长的抑制作用明显。在28℃条件下用 Bt 棉饲养棉铃虫1～3龄幼虫3 d，对幼虫的致死率显著高于25℃处理，对3龄幼虫抑制生长的作用也显著提高。研究结果可为确定棉铃虫对 Bt 棉的抗性监测与治理技术以及 Bt 棉的田间应用技术提供依据。

关键词 转 Bt 基因棉花，棉铃虫，杀虫活性，抑制生长

将苏云金杆菌 *Bacillus thuringiensis*（Bt）杀虫蛋白基因导入棉花的研究，近年在实用化方面发展迅速，1996年在美国和澳大利亚已进入商业化应用[1]。我国是世界上人工合成 Bt 杀虫蛋白基因并导入棉花获得抗虫转基因棉（简称 Bt 棉）的第二个国家[2]，经室内和田间综合鉴定试验证明，多个 Bt 棉株系对棉铃虫 *Helicoverpa armigera*（Hübner）具有很高的抗性和控制危害能力[3]。中国农业科学院棉花研究所利用生物技术和常规育种相结合的途径培育出多个 Bt 棉品系，经生物测定和田间试验、示范证明，对棉铃虫具有良好的抗虫性[4,5]。但关于我国培育的 Bt 棉品系对幼虫各个龄期的杀虫活性尤其是从不同龄期开始连续取食对化蛹的影响，尚未见报道。为此，我们将棉铃虫从不同龄期开始取食 Bt 棉并进行系统测定，以期为棉铃虫对 Bt 棉抗性监测与治理的研究以及 Bt 棉田间应用技术的设计提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试 Bt 棉品系

Bt 棉品系 R93-4及其亲本对照中棉所12号（中12）由中国农业科学院棉花研究所提供，5月初播种，Bt 棉在温室内盆栽种植，中12对照在温室及田间均有种植，常规栽培管

* 国家自然科学基金和863计划资助项目
** 西北农业大学植保系97届实习生
1996-12-03收稿，1997-12-15收修改稿

理。正式试验前用 Bt 棉抗虫性的测定方法[3]进行了生物测定，选择杀虫活性基本一致的棉株供试。

1.2　供试棉铃虫

1996年6月下旬从河北、河南和山东省共6个县采集棉铃虫成虫，在室内分别饲养2代并完成抗药性测定后，形成田间混合种群，供试棉铃虫幼虫为混合种群 F_1～F_3代。棉铃虫的人工饲养参照魏岑等[6]和卢美光等[7]方法。供试幼虫1龄为孵化12 h 之内的初孵幼虫，2～5龄在处理之前用人工饲料饲养，自相应龄期开始一直用 Bt 棉叶或常规对照棉叶饲养至化蛹。

1.3　Bt 棉对棉铃虫幼虫的抗虫性测定

1996年8～9月份在棉花的花铃期，一般采用 Bt 棉与对照棉株顶部第3～4片叶，对4～5龄的测定当该部位叶片不够时用第5片叶，用0.1%的次氯酸钠溶液浸泡3 min 消毒，然后用清水冲洗并凉干，分别放入双层皿中（直径为5 cm），每皿接入棉铃虫幼虫1头，1～5龄幼虫分别处理30头，每10头为1次重复，其中3～5龄幼虫在接虫前用电子天平测定体重；置于（25±1）℃、光照16 h 的光照培养箱中，处理3 d 和6 d 后分别检查幼虫的存活情况，测定存活幼虫体重并更换新鲜棉叶，其中5龄幼虫取食6 d 后均已化蛹，各处理幼虫化蛹后统计化蛹率和羽化率。在完成上述测定之后，还比较了不同温度（25±1）℃和（28±1）℃条件下 Bt 棉对1～3龄幼虫抗虫性的影响，每龄幼虫分别处理30头，每10头为1次重复。Bt 棉与对照处理相同龄期棉铃虫各平均数的差异显著性测定采用 t 测验。

2　结果与分析

2.1　Bt 棉对棉铃虫不同龄期幼虫的杀虫活性

棉铃虫幼虫从不同龄期开始连续取食 Bt 棉叶片的测定结果表明（表1），幼虫的死亡

表1　Bt 棉对棉铃虫不同龄期幼虫的杀虫活性

龄期	处理	幼虫死亡率（%）±*SEM*		化蛹率（%）±*SEM*
		3 d	6 d	
1	Bt 棉	51.1±7.3**	92.9±1.9**	0**
	对照	0	10.0±5.8	80.0±10.0
2	Bt 棉	23.3±6.7*	76.6±8.8**	0**
	对照	6.7±2.6	6.7±2.6	80.0±5.8
3	Bt 棉	3.3±3.3	96.7±3.3**	0**
	对照	10.0±10.0	26.7±3.3	23.3±3.3
4	Bt 棉	0	30.0±5.8*	0**
	对照	3.3±3.3	6.7±6.7	90.0±10.0
5	Bt 棉	0	0	93.5±3.3
	对照	0	6.7±2.6	86.7±3.3

注：* 和 ** 分别表示本龄期 Bt 棉与对照间差异显著和极显著（P<0.05和0.01，t 测验），表2同此

率随着龄期的增大而趋于降低，其中处理3 d只对1龄幼虫有较高效果（校正死亡率＞50％），对2～5龄幼虫的致死率很低；处理6 d后对1～4龄的效果明显提高，且使其均不能化蛹；5龄幼虫取食Bt棉叶后能正常化蛹，其化蛹率与取食对照常规棉叶片无显著差异。对5龄幼虫化的蛹进一步观察发现，Bt棉和对照处理蛹的羽化率分别为92.9％和84.5％，两者差异不显著。Bt棉及对照处理3龄幼虫6 d后的死亡率均偏高，原因是病毒感染导致幼虫的自然死亡率提高。

2.2 Bt棉对棉铃虫不同龄期幼虫体重的影响

由于供试棉铃虫1、2龄幼虫的虫体很小，且Bt棉对其致死率较高，因此只测定了Bt棉叶对3、4、5龄体重的影响。结果表明（表2），Bt棉处理3、4龄幼虫3 d后体重与初始体重之比分别为0.94和1.00，而对照的相应比值分别为5.84和2.74，Bt棉处理后其体重显著低于对照；Bt棉处理3龄和4龄幼虫6 d后其体重分别比初始体重降低47％和11％，对幼虫生长的抑制作用更加明显。Bt棉处理5龄幼虫3 d和6 d（均已化蛹）后其体重均略低于对照，但两处理间差异不显著；处理3 d时体重下降可能是由于一直取食人工饲料的试虫再用棉叶饲养时对食料不够适应，使幼虫提前进入预蛹期所致，这是昆虫对不良食料条件的适应反应之一。

表2 Bt棉对棉铃虫不同龄期幼虫生长的抑制作用

龄期	处理	初始体重 (mg/头)±*SEM*	处理3 d (mg/头)±*SEM*	处理3 d 体重/初始体重	处理6 d (mg/头)±*SEM*	处理6 d 体重/初始体重
3	Bt棉	16.2±0.7	15.3±1.2**	0.94	7.7±0.0**	0.50
	对照	14.7±0.6	80.5±3.9	5.48	280±20.4	19.1
4	Bt棉	80.9±3.5	80.0±4.7**	0.99	68.9±5.8**	0.85
	对照	71.9±2.5	193±3.1	2.68	343±21.9	4.77
5	Bt棉	324±9.6	226±8.0	0.70	207±11.3	0.64
	对照	328±8.2	246±8.6	0.75	230±6.1	0.70

注：5龄幼虫处理6 d后均已化蛹

表3 Bt棉在不同温度下处理棉铃虫3 d对其存活和生长的影响

龄期	调查项目	处理	(25±1)℃	(28±1)℃	差异显著性
1	死亡率	Bt棉	50.0±14.1	80.0±4.1	**
	(％±*SEM*)	对照	7.5±4.8	12.5±4.8	
2	死亡率	Bt棉	30.0±12.3	87.5±2.5	**
	(％±*SEM*)	对照	7.5±4.8	15.0±9.6	
3	死亡率	Bt棉	10.0±0	60.0±5.8	**
	(％±*SEM*)	对照	6.7±5.8	30.0±0	*
3	平均体重	Bt棉	7.38±0.65	4.87±0.31	**
	(mg±*SEM*)	对照	13.40±1.90	30.70±6.93	*
3	体重/初重	Bt棉	0.92	0.65	
		对照	1.78	4.00	

注：各平均数后加“*”和“**”分别表示本龄期25℃和28℃处理间差异显著和极显著（$P<0.05$和0.01，t测验）；初重＝接虫时初始体重

2.3 温度对Bt棉杀虫活性的影响

不同温度处理的测定结果表明（表3），与（25±1）℃处理相比，在（28±1）℃条件下用Bt棉叶饲养棉铃虫1～3龄幼虫3 d，幼虫死亡率显著增高，对3龄幼虫体重增长的抑制作用也显著提高。对照处理在不同温度下1～2龄的死亡率无显著差异，3龄幼虫的死亡率和体重增长则有显著差异。

3 讨论

转Bt基因棉花将在今后的棉花害虫综合治理中发挥重要作用，但目前在其研究与应用中，存在如何建立以Bt棉为基础的新的棉花害虫综合治理技术体系、如何延缓害虫的抗性发展等问题[1,8]。为了研究解决这些问题，需要明确Bt棉对害虫不同龄期幼虫的杀虫活性以及对化蛹、羽化的影响。Halcomb等[9]在美国测定了Bt棉对烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 和美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* 各龄期幼虫的杀虫活性，其中1～4龄连续取食后死亡率达到或接近100%，但5龄幼虫取食后可部分化蛹。本实验用我国的Bt棉对棉铃虫的测定结果与该报道基本一致。

实验中各龄期处理的幼虫取食时间和取食量均会有差异，然而本项研究的重点并不是对各个龄期的历期内的静态效应，而是分析棉铃虫从某一龄期开始连续取食Bt棉的累计死亡率和对体重的影响。由于5龄幼虫在Bt棉上连续取食可部分化蛹，并考虑到棉铃虫高龄幼虫在棉田中可转株取食，因此在对Bt棉的抗性治理中不宜采用与常规棉品种混种（seed mixture）的措施。目前我国华北地区棉铃虫田间种群对Bt制剂的敏感性存在差异[10]，为了延长Bt棉的使用寿命，保证Bt棉品系中抗虫棉株的纯合性和杀虫蛋白的高水平表达将是预防抗性的关键环节之一。由于Bt棉处理3、4龄幼虫3 d后的致死率与常规棉叶处理均差异不显著，而相应的体重均差异显著，因此将对幼虫生长的抑制作用作为测定Bt棉抗虫性和棉铃虫对Bt棉抗性监测的指标之一，可能比只用死亡率指标更为灵敏。

美国在Bt棉大面积种植的第一年，1996年在局部地区（Texas州东部）出现了对美洲棉铃虫效果下降、需在Bt棉上喷药的问题，对其原因尚有不同看法，据分析可能与气温反常有关[11]。在我国[5]和澳大利亚[12]已有研究表明，Bt棉在生育前期对棉铃虫的抗虫性较后期更好，这除了受棉株中杀虫蛋白表达水平变化的影响以外，根据本项研究的结果推测，还可能与生育后期的气温降低有关。环境温度及旱、涝等因素对Bt棉杀虫效果的影响，与Bt棉的田间配套使用技术具有密切联系，有待进一步研究探讨。

参　考　文　献

1 赵建周，卢美光．转Bt基因棉花在害虫综合防治中的作用、抗性问题及其对策．中国植物保护研究进展，中国植物保护学会等编，北京：中国科学技术出版社，1996．447～450

2 崔洪志，郭三堆．我国抗虫转基因棉花研究取得重大进展．中国农业科学，1996，29（1）：93

3 王武刚，姜永幸，杨雪梅等．转Bt基因棉花对棉铃虫的抗虫性表现及利用研究．中国植物保护研究进展，中国植物保护学会等编，北京：中国科学技术出版社，1996．442～446

4 夏敬源，汪若海，文绍贵等. 抗虫棉在棉铃虫综合治理中的作用研究初报. 中国棉花，1995，22（8）：8～11
5 董双林，文绍贵，王月恒. 转Bt基因棉花对棉铃虫存活、生长及为害的影响. 中国植物保护研究进展，中国植物保护学会等编，北京：中国科学技术出版社，1996. 425～429
6 魏 岑，赵永巧，范贤林等. 氰戊菊酯、马拉硫磷及其混剂汰选选育棉铃虫抗药性的研究. 中国农业科学，1992，25（6）：9～14
7 卢美光，赵建周，范贤林等. Bt制剂对棉铃虫的两种毒力测定方法比较. 植物保护研究进展，北京：中国科学技术出版社，1995. 366～369
8 Forrester N W. Resistance management options for conventional *Bacillus thuringiensis* and transgenic plants in Australian summer field crops. Biocontrol Science and Technology, 1994, 4: 549～553
9 Halcomb J L, Benedict J H *et al.* Survival and growth of bollworm and tobacco budworm on non-transgenic and transgenic cotton expressing a CryIA insecticidal protein. Environ. Entomol., 1996, 25: 250～255
10 赵建周，卢美光，范贤林等. 棉铃虫田间种群对Bt制剂的敏感性差异. 植保技术与推广，1995，15（6）：3～4
11 Kaiser J. Pests overwhelm Bt cotton crop. Science, 1996, 223: 423
12 Fitt G P, Mares C L *et al.* Field evaluation and potential ecological impact of transgenic cottons in Australia. Biocontrol Science and Technology, 1994, 4: 535～548

SURVIVAL AND GROWTH OF DIFFERENT INSTAR LARVAE OF *HELICOVERPA ARMIGERA* (HÜBNER) ON TRANSGENIC BT COTTON

Zhao Jianzhou Lu Meiguang Fan Xianlin Xie Feizhou
(Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094)

Abstract Transgenic cotton line R93-4 expressing *Bacillus thuringiensis* CryIA gene was used for evaluating the effects of Bt cotton on the survival and growth of different instar larvae of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). Significant insecticidal activity of Bt cotton leaves was observed only on the first instar larvae successively feeding for 3 days. No larva could survive to pupation when fed on Bt cotton leaves continuously starting at 1st, 2nd, 3rd or 4th instar. But started feeding on Bt cotton leaves at fifth instar, larvae could normally survive to pupae. The inhibition effect of Bt cotton on the growth of larvae was more obvious than the lethal effect. The mortality and growth inhibition of larvae by Bt cotton were higher at 28℃ as compared with 25℃. The results are valuable for further research on the monitoring and management techniques of the pest resistance to Bt cotton.

Key words transgenic Bt cotton, *Helicoverpa armigera*, host plant resistance